

研究者：片岡 広太（所属：岡山大学 予防歯科学分野）

研究題目：骨芽細胞と口腔常在菌の相互作用

目的：

常在菌は腸内の組織や免疫応答に加えて骨代謝にも関与する。常在菌は骨代謝において、破骨細胞に影響を与えることが報告されているが、骨芽細胞にどのような影響を与えるかに関する研究は少ない。本研究では、無菌状態の germ free (GF) マウスと常在菌を有する specific-pathogen-free (SPF) マウスを用いて、骨芽細胞の機能に対する常在菌の影響について検討した。

対象および方法：

8週齢の GF・SPF マウスを屠殺し、通法に従い頭蓋冠を摘出し、骨芽細胞を採取した。分化誘導から5週間培養し、石灰化能を調べるためアリザリンレッド染色を行った。また培養した骨芽細胞から mRNA を抽出し、破骨細胞分化因子：receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) および破骨細胞形成抑制因子：osteoprotegerin (OPG) の遺伝子発現を調べた。さらに骨芽細胞内の転写因子を調べるために PCR アレイを用いて網羅的に解析した。

結果および考察：

GF マウス群と SPF マウス群の骨芽細胞培養細胞のアリザリンレッド染色の範囲を比較したところ、3週目では有意な差が認められなかったが、5週目では GF マウス群では有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。 (Figure 1)

各マウスの培養細胞中の破骨細胞誘導である RANKL/OPG の mRNA の発現比を計測したところ、RANKL/OPG 比は GF マウスでは、SPF マウスのものと比べ有意に低い値を示した ($p < 0.05$)。 (Figure 2)

骨芽細胞の転写因子に関する PCR アレイでは GF マウス群で GATA binding protein 3 (GATA-3) の遺伝子発現が有意に増加していた ($p < 0.05$)。 (Figure 3)

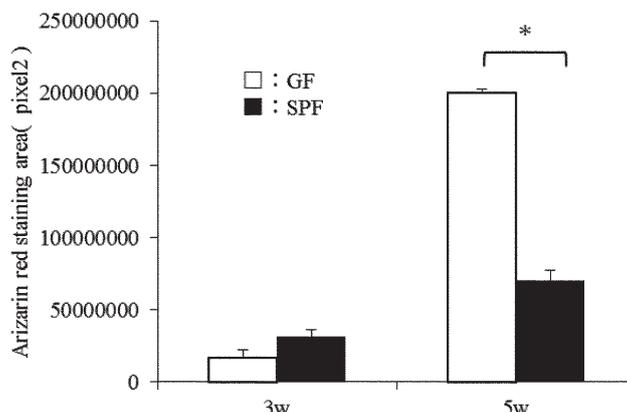


Figure 1. アリザリンレッド染色範囲の経時的変化

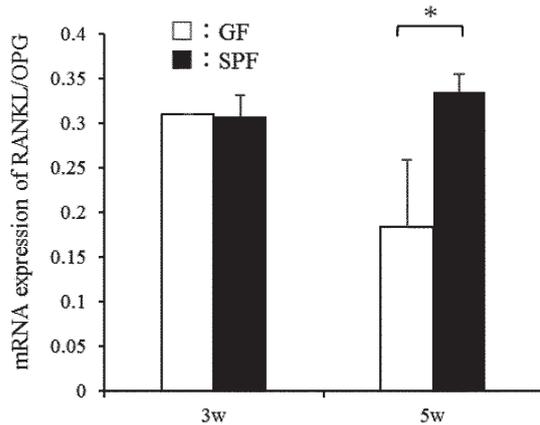


Figure 2. 培養細胞中の RANKL/OPG 比の経時的変化

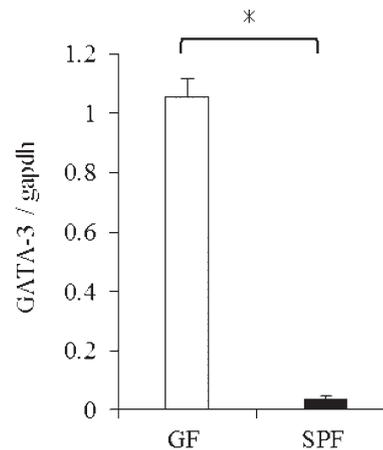


Figure 3. 培養細胞中の GATA-3 発現量

考 察

アリザリンレッド染色では、GF マウス群の骨芽細胞培養細胞において SPF マウス群のものと比較し優位にアリザリンレッド染色範囲が広がった。過去の研究において、無菌マウスの脛骨では骨量が増加するとの報告があり (Klara et al. 2012)、GF マウスにおいても、石灰化能の亢進により骨量が増加したのではと考えられる。

また骨芽細胞における破骨細胞誘導を示す RANKL/OPG 比では、5 週後の GF マウスでは SPF マウスのものと比べ、優位に低い値を示した。このことより、GF マウスの骨芽細胞において破骨細胞誘導が低下していると考えられる。

さらに網羅的遺伝子解析において、GF マウスのものでは GATA-3 の有意な増加が認められた。GATA-3 の活性と免疫細胞の分化に関連があるといわれている (Barnes et al. 2008)。加えて、GATA-3 は酸化ストレス下にて骨芽細胞内において発現し、細胞寿命に関与することが分かっている (Chen et al. 2010)。GF マウスでは、常在菌の影響がないことで、免疫細胞の分化が変化、GATA-3 を介して骨芽細胞からの破骨細胞誘導が低下、骨量増加につながったのではと考えられる。

結 論

常在菌が免疫細胞の分化に影響を与えることで、骨芽細胞・石灰化能に関与し、骨代謝に関係する可能性が示唆された。

成果発表：

第 66 回 日本口腔衛生学会・総会 (2017 年 5 月 31 日～6 月 2 日、山形) で発表予定